

DOI: 10.16861/j.cnki.zggc.2023.0619

# 大白菜蜡质缺失突变体 YW71 的遗传及序列变异分析

杨双娟<sup>1</sup>, 唐昊<sup>1,2</sup>, 赵艳艳<sup>1</sup>, 魏小春<sup>1</sup>, 王志勇<sup>1</sup>, 苏贺楠<sup>1</sup>,  
张文静<sup>1</sup>, 李林<sup>1</sup>, 王坐京<sup>1</sup>, 原玉香<sup>1</sup>, 张晓伟<sup>1</sup>

(1. 河南省农业科学院蔬菜研究所 郑州 450002; 2. 河南科技学院园艺园林学院 河南新乡 453003)

**摘要:**以大白菜蜡质突变体 YW71 为对象, 研究其亮绿无蜡粉性状的遗传规律和调控基因。通过遗传分析, 表明 YW71 中的亮绿无蜡粉性状由隐性单基因控制。通过等位基因互补实验证明 YW71 的亮绿性状是 *BrWAX2* 等位突变引起的。序列分析表明, 在 YW71 中 *BrWAX2* 基因在第 3 个外显子末端发生了 39 bp 的缺失, 进而引起转录水平的可变剪切和翻译水平的提前终止。表达模式分析表明, *BrWAX2* 基因在 YW71 茎和叶中表达量显著下降。此外, 研究针对 39 bp 的变异开发并验证了共显性标记 BrWAX2-InDel1。研究结果丰富了白菜类蔬菜蜡质突变遗传资源, 将为亮绿无蜡粉品种的分子育种提供理论指导和技术支持。

**关键词:** 大白菜; 亮绿突变体; 等位基因互补实验; 序列变异分析

中图分类号: S634.1

文献标志码: A

文章编号: 1673-2871(2024)01-032-07

## Inheritance and sequence variation analysis of a wax-less mutant YW71 in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*)

YANG Shuangjuan<sup>1</sup>, TANG Hao<sup>1,2</sup>, ZHAO Yanyan<sup>1</sup>, WEI Xiaochun<sup>1</sup>, WANG Zhiyong<sup>1</sup>, SU Henan<sup>1</sup>, ZHANG Wenjing<sup>1</sup>, LI Lin<sup>1</sup>, WANG Zuoqing<sup>1</sup>, YUAN Yuxiang<sup>1</sup>, ZHANG Xiaowei<sup>1</sup>

(1. Institute of Vegetables, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, Henan, China; 2. College of Horticulture and Landscape Architecture, Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, Henan, China)

**Abstract:** In this study, we identified a wax-less Chinese cabbage (*Brassica rapa*) mutant YW71, the inheritance and the controlling gene for the glossy trait were studied extensively. Genetic analysis indicated that the glossy trait in YW71 was controlled by a single recessive locus. Allelic complementary experiment showed that the glossy trait in YW71 was caused by mutation of the gene *BrWAX2*. Sequence analysis revealed that a 39 bp deletion was identified at the end of the third exon of *BrWAX2*, resulting in alternative splicing at the transcription level and finally leading to a premature stop codon at the translation level. Expression analysis showed that *BrWAX2* was significantly down-regulated in stems and leaves of glossy YW71. Furthermore, a co-dominant marker BrWAX2-InDel was developed and validated. Overall, these results enrich the genetic resources of glossy mutants and provide applicable markers for marker-assisted selection (MAS)-based breeding of Chinese cabbage, which has pivotal significance in theory and practice.

**Key words:** Chinese cabbage; Glossy mutant; Allelic complementary experiment; Sequence variation analysis

植物表面的蜡质也称蜡粉, 是覆盖在植物表皮细胞外的一层由亲脂性化合物构成的疏水层<sup>[1-2]</sup>。蜡粉的主要作用是减少非气孔的水分散失、增强植株对生物胁迫和非生物胁迫的抗性等。此外, 蜡质还影响植物的生长发育, 蜡质缺失相关基因的突变

会引起器官融合和育性降低<sup>[3-4]</sup>。白菜类作物(*Brassica rapa* L.) 属于十字花科(Cruciferae)芸薹属(*Brassica*), 包括大白菜(*B. rapa* subsp. *pekinensis*)、小白菜(*B. rapa* subsp. *chinensis*)、芜菁(*B. rapa* subsp. *rapifera*)、菜心(*B. campestris* L. *chinensis* var.

收稿日期: 2023-09-20; 修回日期: 2023-11-23

基金项目: 河南省农业科学院优秀青年科技基金(2022YQ10); 河南省自然科学基金(222300420197); 国家自然科学基金(32202485); 河南省农业科学院科技创新团队(2022TD06); 河南省重点研发专项(221111110100); 河南省农业良种联合攻关项目(2022010504); 农业农村部现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-23-G15)

作者简介: 杨双娟, 女, 副研究员, 主要从事大白菜育种研究。E-mail: sjyang\_0614@163.com

通信作者: 张晓伟, 男, 研究员, 主要从事大白菜育种研究。E-mail: xiaowei5737@163.com

原玉香, 女, 研究员, 主要从事大白菜育种研究。E-mail: yuxiangyuan126@126.com

*utilis* Tsen et Lee)等多个亚种和变种,拥有共同的基因组(A基因组),相互之间杂交可以结实,没有生殖隔离,在大白菜中鉴定的优异基因可以通过杂交并回交的方式转移到菜心和小白菜中<sup>[5]</sup>。白菜类作物中的菜心和薹菜等以鲜嫩的茎和叶为食用器官,其叶片和茎表皮蜡质性状是一个重要商品性状。蜡质缺失蔬菜的叶片和茎部表皮覆盖蜡质极少,颜色亮绿,有光泽,商品性好,食用品质佳,感官上更鲜嫩,更受消费者喜爱<sup>[6-7]</sup>。但是白菜类蔬菜的蜡质性状只有在抽薹开花期才能表现出来,在选育亮绿无蜡粉材料过程中费时费力,极大地延缓了育种进程。因此,鉴定新的亮绿无蜡粉基因,并开发实用的分子标记,进而利用分子标记辅助筛选对加快亮绿无蜡粉品种的育种速度具有重要意义。

目前,白菜类蔬菜中克隆了4个亮绿无蜡粉基因。Zhang等<sup>[8]</sup>以亮绿无蜡粉08A235-2为亲本,克隆了*BrWAX1*基因,该基因编码BAHD酰基转移酶,与拟南芥*CER2*基因同源。笔者研究团队前期以亮绿无蜡粉材料Y1211-1为亲本,克隆了*BrWAX2*基因,该基因编码醛脱羧酶,与拟南芥*CER1*基因同源<sup>[9]</sup>。研究表明,Y1211-1材料完全缺失了*BrWAX2*基因,阻碍了C30醛向C29烷烃的转化,导致了烷烃物质的含量降低,并最终表现出亮绿无蜡粉表型。此外,笔者研究团队以亮绿无蜡粉材料SD369为亲本,克隆了*BrWAX3*基因,该基因编码酮脂酰CoA合酶,是*AtCER60*的同源基因<sup>[10]</sup>。最近,Li等<sup>[11]</sup>以亮绿材料HN19-G为亲本,通过图位克隆方式分离了一个新的蜡质基因*Brcer2*,该基因编码BAHD酰基转移酶,影响C28脂肪酸的延伸。

前人分离蜡质基因大多通过正向遗传学的图位克隆方式获得目的基因,并解析蜡质突变基因的序列变异方式,但是近年来涌现出很多重复性研究工作,例如Liu等<sup>[12]</sup>于2017报道鉴定了甘蓝的一个蜡质基因*Cgl2*,该基因在甘蓝基因组中对应基因*Bol013612*,是拟南芥*CER4*的同源基因,该基因在突变材料LD10GL中发生了一个SNP的突变导致了功能缺失;而相同的作者于2018年又报道鉴定了一个蜡质基因*BoWax1*,该基因同样是拟南芥*CER4*的同源基因,在基因组上对应相同的基因*Bol013612*,只不过该基因在新的突变体材料HUAYOU2中发生了2bp的缺失<sup>[13]</sup>,与之前的序列变异方式不同而已。笔者认为这种相同基因的不同等位变异方式的解析,可以先通过突变体材料的杂交确定是否是等位基因,如果是等位基因,直接

对目的基因进行测序进而解析其序列变异方式,如果不是等位基因,再进行图位克隆进行目的基因分离,如此可以避免图位克隆的重复性工作,提高基因利用效率。

笔者以蜡质突变体YW71为研究材料,通过构建遗传群体分析了YW71中亮绿无蜡粉性状的遗传规律,通过等位基因检测方式判断YW71与已知蜡质突变体的关系,克隆了YW71中的蜡质基因,开发了基因内的分子标记,以期为白菜类蔬菜蜡质合成的分子机制解析和亮绿无蜡粉材料的分子辅助育种提供理论和技术支持。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 供试材料与遗传分析

笔者的试验选用小孢子培养获得的双单倍体DH系YW71、R16、YW81、Y1211-1和SD369为供试材料,材料均由河南省农业科学院蔬菜研究所提供。YW71为亮绿无蜡粉材料,R16为正常的有蜡粉材料,以YW71和R16为亲本,杂交获得F<sub>1</sub>,进而F<sub>1</sub>自交获得F<sub>2</sub>。2022年1月5日将YW71、R16以及F<sub>1</sub>和F<sub>2</sub>群体种植于河南省农业科学院蔬菜研究所原阳试验田,田间统一管理,待所有材料抽薹后调查每个植株花茎、叶片上有无蜡粉,根据F<sub>2</sub>的有蜡粉植株和亮绿无蜡粉植株的分离比例进行遗传规律分析。

YW81、Y1211-1和SD369均为亮绿无蜡粉材料,YW81的亮绿表型是由*BrWAX1*基因突变引起的<sup>[8]</sup>,Y1211-1的亮绿表型是由*BrWAX2*基因完全缺失造成的<sup>[9]</sup>,SD369的亮绿表型是由*BrWAX3*基因第一个外显子的5567bp的插入突变引起的<sup>[10]</sup>。笔者的研究将YW71分别与YW81、Y1211-1和SD369杂交获得F<sub>1</sub>,进而观察F<sub>1</sub>植株花茎和叶片表面蜡粉的有无。如果两个亮绿材料的F<sub>1</sub>表现为有蜡粉表型,则表明两个亮绿材料携带的蜡质基因不是等位基因,在基因组上位于不同的位置;如果两个亮绿材料的F<sub>1</sub>表现为亮绿无蜡粉表型,则表明两个亮绿材料携带的蜡质基因是同一个基因,即在基因组上位于同一基因座位。

### 1.2 基因组DNA提取和目的基因克隆

采集供试材料的新鲜叶片,采用CTAB法<sup>[14]</sup>提取所需材料的基因组DNA,用NanoDrop One(Thermo Scientific公司)和1%的琼脂糖凝胶电泳检测DNA的质量和浓度。

采用*BrWAX2*全长引物BrWAX2-g1(表1)<sup>[9]</sup>扩

表1 本研究所用引物及序列  
Table 1 Primers and sequences used in this study

引物名称 Primer name	正向引物序列(5'-3') Forward primer sequence (5'-3')	反向引物序列(5'-3') Reverse primer sequence (5'-3')
BrWAX2-g1	ATGGCTACGAAACCAGGCATCCTCAC	TCAGGGGTATTGGAAGTGATGTGGAAGC
BrWAX2-P2	ATGGCTACGAAACCAGGCATCCTCAC	GAACCTTGAGAGGAGGAAAGAGG
BrWAX2-P3	CCTCTTCTCCTCTCAAGTTC	TCAGGGGTATTGGAAGTGATGTGGAAGC
BrWAX2-Qua1	ACAGTTCCTCCCTCAAGCAGT	CATGCATTTCCCATCCTTCT
BrWAX2-InDel1	GGCTCCACAAAGCTCTTACC	CGTTGTCAACAATGGTATGGCG
BrGAPDH	AGAGCCGCTTCTTCAACATCATT	TGGGCACACGGAAGGACATACC

增 YW71 的 gDNA 全长和 CDS 全长序列。扩增所用 PCR 体系为 50 μL:3 μL DNA 模板(100 ng·μL<sup>-1</sup>), 25 μL Phanta Flash Master Mix(2×)(诺唯赞生物科技股份有限公司), 上下游引物各 3 μL, 16 μL ddH<sub>2</sub>O。PCR 扩增程序为第一阶段 98 °C 变性 30 s; 第二阶段 98 °C 变性 10 s, 55 °C 退火 5 s, 72 °C 延伸 30 s, 共 35 个循环; 第三个阶段 72 °C 延伸 5 min。PCR 扩增产物送公司(上海铂尚生物科技有限公司)利用 F 和 R 引物进行双向 Sanger 测序, 进而获得每份材料的基因序列。获得序列利用 DNAMAN8.0 软件进行多重序列比对。

### 1.3 RNA 提取和 qPCR 定量分析

采集 YW71 和 R16 抽薹后的叶片和茎表皮, 置于液氮中速冻。采用 TaKaRa 公司 RNAiso Plus 试剂盒提取总 RNA, 使用 TransScript One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis Kit(全式金生物技术有限公司)将 YW71 和 R16 的 RNA 反转录成 cDNA。

以 *BrGAPDH* 作为内参基因<sup>[15-16]</sup>, 用引物 BrWAX2-Qua1(表 1)<sup>[9]</sup>进行表达量分析。定量分析所用试剂为 TaKaRa 公司的 SYBR Premix Ex Taq™ II, PCR 反应在 Roche LightCycler 480II 上进行。目

的基因的相对表达量采用 2<sup>-ΔΔCt</sup> 方法计算。表达量显著性分析和作图利用 GraphPad Prism 完成。

### 1.4 常规 PCR 扩增和检测

PCR 反应体系总体积为 20 μL, 其中包括 3 μL 50 ng·μL<sup>-1</sup> 模板 DNA, 上、下游引物(10 μmol·L<sup>-1</sup>) 各 1 μL, 10 μL 3G Taq Master Mix(诺唯赞生物科技股份有限公司), ddH<sub>2</sub>O 5 μL。PCR 反应程序为: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 30 s, 58 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 34 个循环; 最后 72 °C 延伸 5 min。

PCR 产物使用 9% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳进行检测。

## 2 结果与分析

### 2.1 材料 YW71 中亮绿无蜡粉性状由隐性单基因 *BrWAX2* 控制

YW71 的茎和叶表现为亮绿无蜡粉(图 1), R16 的茎和叶表面被覆蜡粉(图 1), 两个亲本杂交得到的 F<sub>1</sub> 表现为有蜡粉表型, F<sub>2</sub> 群体中有蜡粉植株 102 株, 无蜡粉植株 40 株, 经卡平方测验符合 3:1 的分离比例( $\chi^2 = 0.76 < \chi^2_{0.05} = 3.84, p < 0.05$ )。综上, 遗传分析表明 YW71 中亮绿无蜡粉性状由 1 对隐性核基因控制。

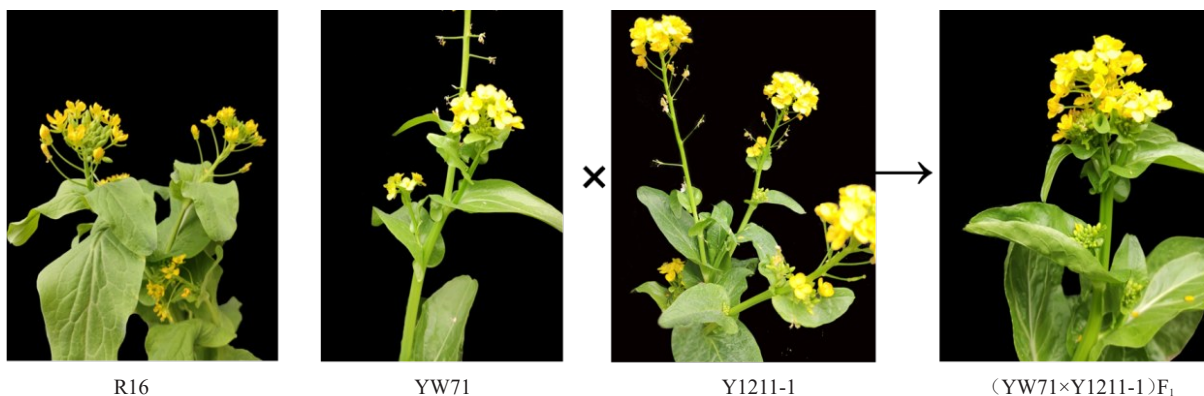


图1 YW71 的蜡质表型特征及遗传分析

Fig. 1 Phenotypic characterization and inheritance analysis the wax trait in YW71

YW81、Y1211-1 和 SD369 均为亮绿无蜡粉材料,携带的蜡质基因分别是 *BrWAX1*、*BrWAX2* 和 *BrWAX3*。为了明确 YW71 携带的蜡质基因是否与上述 3 份亮绿无蜡粉材料携带的蜡质基因一样,将 YW71 和这 3 份材料分别杂交获得 F<sub>1</sub>。结果表明, YW71 和 YW81 杂交得到的 F<sub>1</sub> 植株表现为正常有蜡粉表型, (YW71×SD369)F<sub>1</sub> 也表现为正常有蜡粉表型,但是 YW71 和 Y1211-1 的杂交 F<sub>1</sub> 植株表现为亮绿无蜡粉表型(图 1),表明 YW71 和 Y1211-1 携带蜡质基因相同,均是由 *BrWAX2* 基因突变引起的亮绿表型。

### 2.2 YW71 中亮绿无蜡粉性状由 *BrWAX2* 基因 39 bp 缺失引起

为了探明亮绿材料 YW71 中 *BrWAX2* 基因是如何变异导致的亮绿无蜡粉表型,笔者利用全长引物 BrWAX2-g1 扩增亮绿材料 YW71 的全长 DNA 和 CDS 序列(图 2),序列分析表明在 DNA 水平上,与正常有蜡粉材料 R16 相比,亮绿材料 YW71 中 *BrWAX2* 基因在 790 bp 处发生了 39 bp 的缺失,但是在 cDNA 水平上, R16 的 CDS 全长为 1887 bp, YW71 的 CDS 全长序列为 1436 bp, YW71 的 CDS

全长序列比 R16 减少了 451 bp(图 3-A)。笔者在第 4 个外显子末端设计了 2 个反向互补引物 BrWAX2-P2R 和 BrWAX2-P3F,分别与 BrWAX2-g1F 和 BrWAX2-g1R 配对组成分段引物 BrWAX2-P2 和 BrWAX2-P3,以 YW71 和 R16 的 cDNA 为模板进行扩增,结果表明, BrWAX2-P2 在 R16 中的扩增产物大小为 714 bp,在 YW71 中的扩增产物大小为 263 bp(图 3-B),片段大小差异为 451 bp,而 BrWAX2-P3 在 R16 和 YW71 中的扩增大小一致,均为 1195 bp,由此也进一步证明, *BrWAX2* 基因在亮绿材料 YW71 中缺失了 451 bp 的 CDS 序列。将 2 份材料 *BrWAX2* 基因的 DNA 和 CDS 序列进行比对分析,发现亮绿无蜡粉材料 YW71 中 39 bp 的缺失发生在第 3 个外显子末端 4 bp 和第 3 个内含子前端 35 bp 的邻接处,该 39 bp 的缺失引起了可变剪切,具体表现为第 2 和第 3 外显子的缺失(图 3-C),最终导致翻译蛋白的提前终止和蛋白功能缺失(图 3-D)。

### 2.3 YW71 中 *BrWAX2* 基因表达量显著下降

前期研究表明,蜡质基因 *BrWAX2* 在茎、叶、萼片、花瓣等地上组织中表达量均较高<sup>[9]</sup>,为分析亮绿

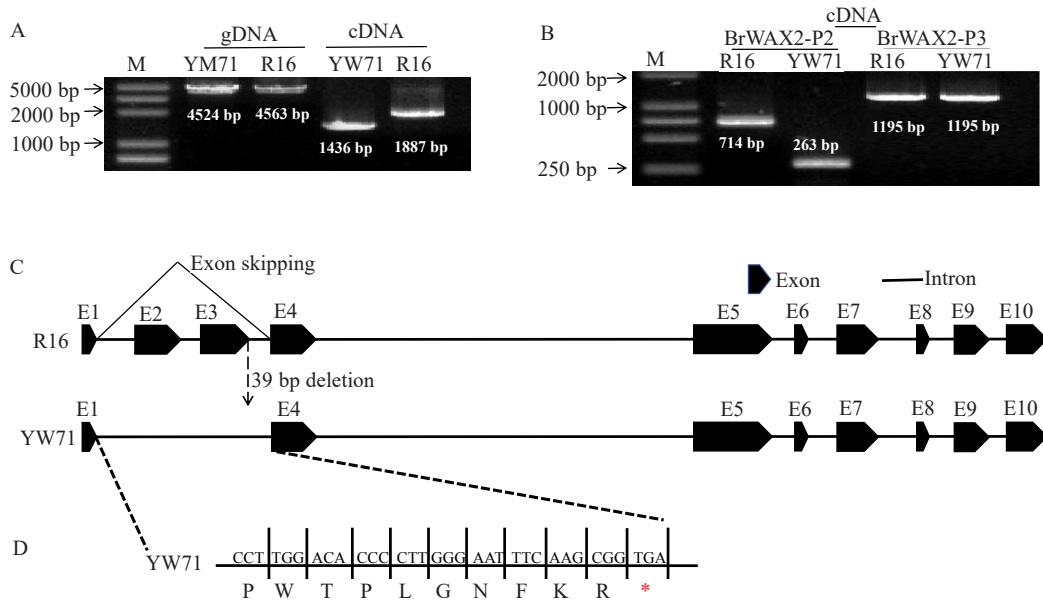


注:在 gDNA 水平上, YW71 相对 R16 发生了 39 bp 的缺失,该缺失发生在第 3 个外显子末端。

Note: In the gDNA level, the *BrWAX2* gene in YW71 has a 39 bp deletion compared to R16, which occurs at the end of the third exon.

图 2 YW71 和 R16 中 *BrWAX2* 基因部分序列比对

Fig. 2 Partial sequence alignment of *BrWAX2* in YW71 and R16



注:A.利用全长引物 BrWAX2-g1 在 YW71 和 R16 中扩增 *BrWAX2* 的 gDNA 和 CDS 全长序列;B.利用分段引物 BrWAX2-P2 和 BrWAX2-P3 在 YW71 和 R16 中扩增 *BrWAX2* 的 CDS 序列;C.R16 和 YW71 中基因 *BrWAX2* 的结构图;D.YW71 中基因 *BrWAX2* 发生了 39 bp 的缺失,导致了可变剪切,最终导致翻译提前终止。

Note: A. Amplification products of the full-length primer BrWAX2-g1 using DNA and cDNA from YW71 and R16. B. Amplification products of two fragmental primers, BrWAX2-P2 and BrWAX2-P3, using cDNA from YW71 and R16. C. Gene structure of *BrWAX2* in YW71 and R16. D. The 39 bp in glossy YW71 caused alternative splicing at the transcriptional level and premature stop codon at the translation level.

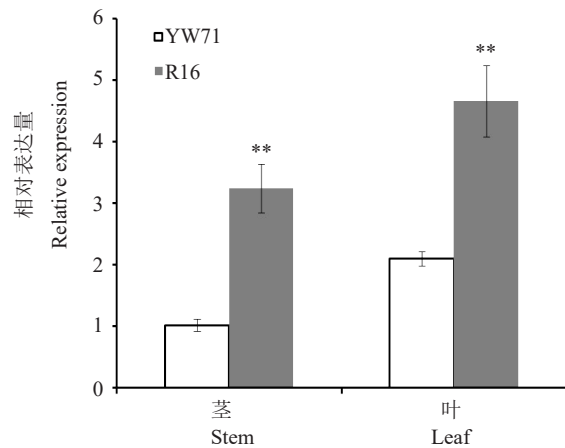
图3 YW71 中 *BrWAX2* 基因的克隆  
Fig. 3 Cloning the *BrWAX2* gene in YW71

无蜡粉材料 YW71 中 *BrWAX2* 基因的表达情况,研究提取了 YW71 和 R16 茎和叶的 RNA。以 *BrGAPDH* 作为内参基因,用引物 BrWAX2-Qua1 (表 1)检测 *BrWAX2* 基因在 YW71 中的相对表达量。结果表明,无论是在有蜡粉材料 R16 还是在亮绿材料 YW71 中,*BrWAX2* 基因在叶片中的表达量均高于在茎中的表达量(图 4)。*BrWAX2* 基因在材料 R16 茎表皮的表达量是 YW71 茎表皮中的 3.2 倍(图 4),表达水平呈极显著差异;在 R16 叶片中的表达量是 YW71 叶片中的 2.2 倍(图 4),表达水平也呈极显著差异。

综上,*BrWAX2* 基因在亮绿无蜡粉材料 YW71 中的表达量显著降低,与蜡粉表型数据是一致的,从表达水平证明了 YW71 亮绿无蜡粉表型与 *BrWAX2* 基因的变异相关。

#### 2.4 突变位点的标记开发和验证

为了进一步验证 YW71 亮绿无蜡粉表型是否是由 *BrWAX2* 基因突变引起的,笔者针对 YW71 中该基因 39 bp 的缺失设计了一个 InDel 标记 BrWAX2-InDel1(表 1),在有蜡粉材料 R16 中扩增条带为 255 bp,在亮绿材料 YW71 中条带大小为 216 bp。将此标记在(YW71×R16) $F_2$ 群体中进行验证,



注:基因 *BrGAPDH* 作为内参基因,误差线指的是标准误差 SE ( $n=3$ ), \*\*  $p < 0.01$ 。

Note: The *BrGAPDH* was used as an internal control. Error bars indicate SE ( $n = 3$ ). \*\*  $p < 0.01$ .

图4 *BrWAX2* 基因的表达分析  
Fig. 4 Gene expression analysis of *BrWAX2* in YW71 and R16

结果表明,在检测的 142 个  $F_2$  单株中,102 株有蜡粉单株的基因型有 2 种带型,其中 65 株的带型为杂合带型,37 株的带型与 R16 一致(图 5),而 40 株亮绿无蜡粉单株的基因型均和 YW71 一致,均扩增出 216 bp 的条带(图 5)。



- a gene controlling cuticular wax biosynthesis in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*) [J]. *Molecular Breeding*, 2013, 32 (4): 867-874.
- [9] YANG S J, LIU H L, WEI X C, et al. *BrWAX2* plays an essential role in cuticular wax biosynthesis in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*) [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2022, 135(2): 693-707.
- [10] YANG S J, TANG H, WEI X C, et al. *BrWAX3*, encoding a  $\beta$ -ketoacyl-CoA synthase, plays an essential role in cuticular wax biosynthesis in Chinese cabbage [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(18): 10938.
- [11] LI B Y, YUE Z C, DING X Y, et al. A *BrLINE1-RUP* insertion in *BrCER2* alters cuticular wax biosynthesis in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*) [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 14: 1212528.
- [12] LIU D M, TANG J, LIU Z Z, et al. *Cgl2* plays an essential role in cuticular wax biosynthesis in cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) [J]. *BMC Plant Biology*, 2017, 17: 223.
- [13] LIU D M, DONG X, LIU Z Z, et al. Fine mapping and candidate gene identification for wax biosynthesis locus, *BoWax1* in *Brassica oleracea* L. var. *capitata* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9: 309.
- [14] 杨双娟, 原玉香, 魏小春, 等. 大白菜 KASP 反应体系的优化与建立 [J]. *园艺学报*, 2018, 45(12): 2442-2452.
- [15] QI J N, YU S C, ZHANG F L, et al. Reference gene selection for real-time quantitative polymerase chain reaction of mRNA transcript levels in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*) [J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, 2010, 28 (4): 597-604.
- [16] SU T B, YU S C, WANG J, et al. Loss of function of the carotenoid isomerase gene *BrCRTISO* confers orange color to the inner leaves of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*) [J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, 2015, 33(3): 660.
- [17] KUNST L, SAMUELS A L. Biosynthesis and secretion of plant cuticular wax [J]. *Progress in Lipid Research*, 2003, 42(1): 51-80.
- [18] AARTS M G M, KEIJZER C J, STIEKEMA W J, et al. Molecular characterization of the *CER1* gene of arabidopsis involved in epicuticular wax biosynthesis and pollen fertility [J]. *Plant Cell*, 1995, 7(12): 2115-2127.
- [19] LIU C H, SONG G X, WANG N, et al. A single SNP in *BrCer1* results in wax deficiency in Chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *pekinensis*) [J]. *Scientia Horticulturae*, 2021, 282: 110019.